



Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Klinik für Geflügel,
Bünteweg 17, 30559 Hannover

QS-Wissenschaftsfond
QS-Qualität und Sicherheit GmbH
Schedestraße 1-3
53113 Bonn

Klinik für Geflügel

Leitung
Prof. Dr. Silke Rautenschlein, PhD
Bünteweg 17
30559 Hannover

Tel. +49 511 953-8779
Fax +49 511 953-828779
silke.rautenschlein@tiho-hannover.de

Datum
Hannover, 05.12.2022

Abschlussbericht über das Projekt

„Histomonose bei der Pute: Epidemiologische Untersuchungen zur Ermittlung von Eintragsursachen und krankheitsbegünstigenden Faktoren“

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	3
2.	Zielsetzungen	4
3.	Planung und Verlauf	5
4.	Durchführung	7
4.1.	Block 1	7
4.2.	Block 2	9
4.3.	Block 3	10
5.	Ergebnisse	11
5.1.	Block 1	11
5.1.1.	Ergebnisdarstellung Teil A	11
5.1.2.	Ergebnisdiskussion Teil A	13
5.1.3.	Ergebnisdarstellung Teil B	16
5.1.4.	Ergebnisdiskussion Teil B	19
5.1.5.	Ergebnistransfer	22
5.2.	Block 2	23
5.2.1.	Ergebnisdarstellung	23
5.2.2.	Ergebnisdiskussion	27
5.2.3.	Ergebnistransfer	28
5.3.	Block 3	29
5.3.1.	Ergebnisdarstellung	29
5.3.2.	Ergebnisdiskussion	29
5.3.3.	Ergebnistransfer	30
6.	Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	30
7.	Zusammenfassung	32
8.	Anlagen	33
9.	Kontakt	35
10.	Referenzen	36

1. Einleitung

Die Histomonose, auch Schwarzkopfkrankheit genannt, ist eine durch *Histomonas meleagridis* verursachte Erkrankung, die insbesondere bei Puten mit hohen Mortalitätsraten einhergehen kann [1-4]. Auch andere Nutzgeflügelarten und Wildvögel können an der Histomonose erkranken [5, 6].

Die Infektion erfolgt oral oder auch kloakal [6]. Dabei wird der Erreger vor allem indirekt über infizierte Larven oder Eier von *Heterakis gallinarum* sowie über Stapelwirte, zu denen unter anderem Regenwürmer zählen, aufgenommen [5, 6]. Jedoch ist auch eine direkte Aufnahme des Erregers möglich [7].

Die Hauptzielgewebe der Histomonaden sind die Blinddarmschleimhaut und die Leber, aber auch andere Organsysteme können betroffen sein und das klinische Bild beeinflussen [6, 8].

Klinisch zeigen die Puten eine unspezifische, allgemeine Leistungsdepression mit Apathie, Bewegungsunlust, geschlossenen Augen, hängenden Flügeln und gestäubtem Gefieder [9, 10]. Des Weiteren kann ein charakteristischer, schwefelgelber Durchfall beobachtet werden [10]. Die Mortalität in Putenbeständen kann zwischen weniger als 10% bis zu 100% betragen [3, 4, 11, 12].

In der pathologisch-anatomischen Untersuchung zeigen sich fibrinöse Blinddarmveränderungen mit „käsigem“ Inhalt sowie herdförmige Nekrosen in der Leber, die für den Erreger typisch sind [10, 13].

Zum direkten Nachweis des Erregers *Histomonas meleagridis* wird heutzutage überwiegend die PCR, ein molekularbiologisches Verfahren zur Identifikation von Erreger-DNA, eingesetzt [14-16].

Seit dem Verbot wirksamer Futtermittelzusatzstoffe und Medikamente ist es zu einem dramatischen Anstieg der Histomonose-Fälle bei Puten, nicht nur in Deutschland, sondern weltweit, gekommen [17-19]. Behandlungsversuche mit pflanzlichen Extrakten sind bei der Pute scheinbar nicht erfolgreich [19]. Der Einsatz von Paromomycin, einem Aminoglykosid-Antibiotikum, welches nach Umwidmung bei der Pute eingesetzt werden kann, wird als therapeutische Möglichkeit zur Kontrolle eines Histomonaden-Ausbruchs diskutiert und vielfach im Feld auch angewendet [20]. Jedoch scheint ein sehr früher Einsatz notwendig zu sein, und über das Erfolgsmaß wird sehr variabel berichtet [3, 12]. Ein Impfstoff befindet sich in der experimentellen Entwicklungsphase und steht aktuell noch nicht zur Verfügung [19, 21, 22].

Oft bleibt der Eintragsweg von *Histomonas meleagridis* in einen Putenbestand nach einem Ausbruch unklar [23]. Der Erreger kann seine Überlebensdauer durch die Aufnahme in belebte Vektoren verlängern und das Verschleppungspotential nicht nur dadurch, sondern auch durch die Anhaftung an unbelebte Vektoren erhöhen [5, 24].

In Putenbeständen können die Schäden durch Histomonose-Ausbrüche inzwischen existenzbedrohende Ausmaße erreichen und stellen durch die Notwendigkeit der Tötung von schwer betroffenen Herden ein Tierschutzproblem dar.

2. Zielsetzungen

In Anbetracht dessen, dass bisher (noch) keine zuverlässig wirksamen Therapeutika bzw. Impfstoffe zur Verfügung stehen, ist es notwendig, sich mit der Erfassung von Eintragsursachen des Erregers *Histomonas meleagridis* in einen Putenbestand und mit krankheitsbegünstigenden Risikofaktoren der Histomonose systematischen auseinanderzusetzen. Jedoch gibt es international bisher nur wenige veröffentlichte Studien zu diesem Themengebiet [25]. Auch in Deutschland fehlen trotz einer Zunahme der Histomonose-Ausbrüche in den vergangenen Jahren systematische und vor allem aktuelle Untersuchungen [14]. Aus diesen Gründen wurden folgende Aufgabenstellungen im Rahmen dieses Projektes verfolgt:

- Identifikation möglicher Erreger-Eintragsursachen und krankheitsbegünstigender Faktoren der Histomonose
 - durch den Vergleich von Betrieben mit und ohne einen Ausbruch der Histomonose unter der Voraussetzung variabler Umweltbedingungen und eines variablen Betriebsmanagements im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie unter der Zuhilfenahme von Fragebögen (Block 1)
 - anhand wiederkehrender Ausbrüche auf einem Betrieb unter der Voraussetzung gleichbleibender Umweltbedingungen und eines gleichbleibenden Betriebsmanagements (Block 2)
- Untersuchung von Leber- und Blinddarmproben klinisch gesunder Mast- und Elterntierherden am Schlachthof auf *Histomonas meleagridis* durch molekularbiologische Untersuchungen mittels PCR, um Rückschlüsse auf das Ausmaß der Erregerverbreitung bei Tieren zum Zeitpunkt der Schlachtung ziehen zu können (Block 3)

Das übergreifende Ziel des Projektes stellte die Gewinnung von Erkenntnissen zur Epidemiologie der Histomonose dar. Aus den gewonnenen Erkenntnissen könnten Interventionsmaßnahmen formuliert werden, welche vor allem die Bereiche Biosicherheit, Betriebshygiene und Betriebsmanagement umfassen, um somit das Risiko eines Histomonose-Ausbruchs in einer Putenherde zu senken oder bestenfalls, um Histomonose-Ausbrüche eindämmen zu können.

3. Planung und Verlauf

Das Projekt wurde in Zusammenarbeit von Frau Prof. Dr. S. Rautenschlein, PhD, (Klinik für Geflügel) und Frau PD Dr. A. Campe (Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung; IBEI) an der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt. Für das Projekt wurden die entsprechenden Infrastrukturen (Labor, Computerarbeitsplätze, Computerprogramme) der Einrichtungen sowie ein Dienstwagen zur Verfügung gestellt. Das Projekt wurde an verschiedensten Stellen durch wissenschaftliche Mitarbeiter/-innen, technische Mitarbeiter/-innen und veterinärmedizinisch-technische Mitarbeiter/-innen der Klinik für Geflügel und des IBEI unterstützt.

Des Weiteren erfolgte eine Zusammenarbeit mit folgenden Verbänden, Tierärzten/-innen und weiteren Kooperationspartnern/-innen, um Teilnehmer/-innen für die retrospektive Fall-Kontroll-Studie (Block 1) zu gewinnen: Zentralverband der Deutschen Geflügelwirtschaft e.V. (ZDG) einschließlich des Verbands Deutscher Putenerzeuger (VDP), Wissenschafts- und Informationszentrum Nachhaltige Geflügelwirtschaft (WING), VR AgrarBeratung AG, Praxis am Bergweg, Die Praxis für Geflügel GbR, RWS Agrarveredelung GmbH & Co. KG, Fachtierärztliche Praxis für Wirtschaftsgeflügel und Beratung (Magdeburg) und Heidemark.

Das Lehr- und Forschungsgut Ruthe der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover unterstützte das Projekt durch die Bereitstellung von Daten (Block 2) und bei der Fragebogenentwicklung (Block 1).

Die Beprobung von Schlachtputen und die damit verbundene Datenerhebung erfolgte in Kooperation mit Herrn Dr. D. Mischok (Mitarbeiter des Veterinäramtes des Landkreises Oldenburg; Block 3).

Die Projektdurchführung wurde für eine Gesamtdauer von 2 Jahren geplant. Bedingt durch die SARS-CoV-2-Pandemie und den damit verbundenen Schwierigkeiten der Personalrekrutierung konnte das Projekt erst im August 2020 beginnen. Das Projekt wurde mit der Einstellung des Projektmitarbeiters Herrn C. Üffing am 01.08.2020 begonnen und wird mit Beendigung der Beschäftigung der Projektmitarbeiterin Frau J. Lüning am 31.10.2022 beendet. Durch den Personalwechsel verzögerte sich das Projekt bedauerlicherweise noch einmal, sodass eine kostenneutrale Verlängerung des Projektes bis zum 31.10.2022 am 15.10.2021 bewilligt wurde.

Der im Projektantrag aufgestellte Kostenplan konnte eingehalten werden. Die bewilligten Mittel für das Personal, die Durchführung der molekularbiologischen Untersuchungen sowie Dienstreisen waren ausreichend und wurden entsprechend ausgeschöpft. Da die Veröffentlichungen noch nicht abschließend begutachtet und angenommen sind, wurden die Mittel für die Publikationen noch nicht vollumfänglich genutzt, sollen aber bei Annahme dieser entsprechend eingesetzt werden, sodass alle Artikel als open-access der Öffentlichkeit zur Verfügung stehen. Die detaillierte Verwendung der bewilligten Mittel sowie die Erklärung zur Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung können Sie der **Anlage 1** entnehmen.

Tabelle 1: Zeitliche Gliederung des Projektes

Aufgabenbereiche	Projektlaufzeit: 01.08.2022 bis 31.10.2022									
	08/2020	11/2020	02/2021	05/2021	08/2021	11/2021	02/2022	05/2022	08/2022	
	09/2020	12/2020	03/2021	06/2021	09/2021	12/2021	03/2022	06/2022	09/2022	
Block 1 Durchführung einer retrospektiven Fall-Kontroll-Studie unter Zuhilfenahme eines Fragebogens										
Block 2 Retrospektive Erhebung epidemiologischer Daten auf dem Lehr- und Forschungsgut Ruthe										
Block 3 Untersuchung von Leber- und Blinddarmproben aus Schlachtungen von Puteneltern und Putenmasttieren										
Auswertung und Bericht Statistische Auswertung aller erfassten Daten, Verfassen der Dissertation sowie der Publikationen										

4. Durchführung

4.1. Block 1

Im ersten Block wurden Histomonose-Ausbrüche in deutschen Mastputenbetrieben im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie retrospektiv untersucht. Hierzu wurde ein erster Fragebogen erstellt, welcher zur Erfassung möglicher Eintragsursachen und möglicher Risikofaktoren dienen sollte (**Anlage 2**). Dieser Fragebogen wurde durch verschiedene Gruppen getestet: Betreuer/-innen des Mastgeflügelzentrums des Lehr- und Forschungsguts Ruthe; zwei ausgewählte, putenhaltende Betriebe; fünf bestandsbetreuende Geflügeltierärzte/-innen; zehn weitere Tierärzte/-innen sowie durch Frau Dr. E.-M. Gefeller vom ZDG. Nach mehreren Überarbeitungen wurde der Fragebogen über die Plattform „LimeSurvey“ freigeschaltet und stand zwischen dem 26.04.2021 und 31.01.2022 online zur Verfügung. Mehrere Bekanntmachungen dazu erfolgten über das Magazin „DGS“ des ZDG (**Anlage 3** und **Anlage 4**) und durch Frau A.-K. Jacobs über die Homepages der WING (**Anlage 5**). Weiterhin wurde durch Frau M. L. Schneider, Mitarbeiterin des ZDG, der Link zur Online-Umfrage am 18.05.2021 an ca. 500 Mitglieder des Verbandes Deutscher Putenerzeuger (VDP) per E-Mail versandt (**Anlage 6**). Eine Erinnerungs-Nachricht wurde am 11.06.2021 ebenfalls per E-Mail (**Anlage 7**) sowie im Oktober 2021 über den Newsletter „ZDG-direkt“ versandt (**Anlage 8**). Weiterhin erfuhr das Projekt Unterstützung bei der Rekrutierung von Teilnehmern/-innen durch Herrn S. Foppe, Herrn Dr. J. Herberholz, Herrn Dr. H. Windhaus und Herrn T. Uchtmann, denen wir an dieser Stelle herzlich danken möchten.

Ziel der Umfrage war es, Daten für eine retrospektive Untersuchung möglicher Eintragswege der Histomonose zu generieren. Der kalkulierte Stichprobenumfang lag bei 423 Betrieben, was etwa 60% aller deutschen, putenhaltenden Betriebe mit > 1000 gehaltenen Puten entspricht. Insgesamt nahmen trotz Verlängerung des Umfragezeitraums und trotz mehrmaliger Aufrufe zur Teilnahme nur 121 Betriebe an der Umfrage teil, wovon wiederum 113 Fragebögen ausgewertet werden konnten.

Bei den Untersuchungen wurden die Antworten betroffener Betriebe (mit einem Ausbruch seit Januar 2018 = Fallbetriebe) mit den Antworten nicht betroffener Betriebe (ohne einen Ausbruch oder mit einem Ausbruch vor Januar 2016 = Kontrollbetriebe) verglichen, um Hinweise auf mögliche Risikofaktoren detektieren zu können. Insgesamt wurden 54 Variablen folgender Kategorien mittels Fragebogen erfasst: Stallbedingungen; Vektoren, Reservoir-Tiere und damit verbundene Umweltbedingungen; Biosicherheit und Hygiene; Einstreumanagement; sowie Betriebsmanagement. Die Antworten wurden mit Hilfe von Microsoft Excel (Microsoft Corporation, 2018. Microsoft Excel, <https://office.microsoft.com/excel>) tabellarisch erfasst und durch ein selbstständig entwickeltes Schema manuell codiert. Mit Hilfe der Statistikprogramme SAS Enterprise Guide, Version 7.15 und SAS Software, Version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) wurden die Daten zunächst deskriptiv analysiert. Anhand ausgewählter Parameter wurden die Ergebnisse dann selektiert, um induktive Analysen mittels ein- und mehrfaktorieller,

logistischer Regression durchführen zu können. Hierfür standen 39 Variablen zur Verfügung. Anhand der Ergebnisse der logistischen Regressionsanalysen konnte das Risikopotential einzelner Faktoren anhand des Odds Ratios (OR) ermittelt werden (OR < 1,0 entspricht Schutzfaktor, OR > 1,0 entspricht Risikofaktor) und anhand des *P*-Wertes die Aussagekraft des Ergebnisses bestimmt werden. Bei der statistischen Aufarbeitung der Daten erfuhren wir Unterstützung von Frau B. Schneider und Herrn Dr. F. Freise (IBEI).

Weiterhin konnten im Rahmen der Umfrage 31 Fallbetriebe rekrutiert werden, welche einer weiterführenden Unterstützung des Projektes zustimmten. Eine persönliche Befragung betroffener Betriebe und die Besichtigung des betroffenen Standortes im Rahmen einer beobachtenden Feldstudie sollten zur Generierung weiterer Hinweise auf krankheitsbegünstigende Faktoren der Histomonose und zur Einschätzung des Risikobewusstseins der Betriebsleiter/-innen dienen. Zwischen dem 01.08.2021 und dem 31.01.2022 wurden die teilnehmenden Betriebe durch Frau J. Lünig besucht und im Rahmen eines Interviews ein zweiter Fragebogen beantwortet (**Anlage 9**). Dieser Fragebogen wurde zuvor ebenfalls mit Unterstützung zahlreicher Kollegen/-innen zusammengestellt und vor dem Einsatz getestet (Vorgehen siehe erster Fragebogen). Vor der Betriebsbesichtigung wurde der zweite Fragebogen bereits per E-Mail an die teilnehmenden Betriebe zur Vorbereitung zugesandt. Im Rahmen des Betriebsbesuches wurde der Fragebogen gemeinsam mit den Betriebsleitern/-innen auf Richtigkeit überprüft und ergänzend ausgefüllt.

Anschließend wurden die handschriftlichen Antworten mit Hilfe von Microsoft Excel (Microsoft Corporation, 2018. Microsoft Excel, <https://office.microsoft.com/excel>) tabellarisch erfasst und durch ein selbstständig entwickeltes Schema manuell codiert. Mit Hilfe der Statistikprogramme SAS Enterprise Guide, Version 7.15 und SAS Software, Version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) konnten 164 Variablen folgender Kategorien deskriptiv analysiert werden: Beschreibung und Management des Betriebes und der betroffenen Herde; allgemeine Biosicherheitsmaßnahmen; Gesundheitsmanagement; Inzidenz und Therapie von Erkrankungen; Histomonose-Ausbruchsmanagement; und zufällige Gegebenheiten und Befunde. Die grafische Darstellung der Ergebnisse wurde mit Hilfe des Programms GraphPad Prism (Version 6.02 für Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.com) umgesetzt.

4.2. Block 2

Für den zweiten Arbeitsblock standen mit Beginn des Projektes klinische Daten (Stallkarten, Berichte pathologischer- und labordiagnostischer Untersuchungen sowie Medikamentenabgabe-Belege) zur Aufarbeitung wiederkehrender Histomonose- Ausbrüche auf dem Lehr- und Forschungsgut Ruthe über die letzten 14 Jahre im Archiv der Klinik für Geflügel zur Verfügung. Es wurden die Daten zu 20 männlichen- und 12 weiblichen Herden erfasst. Auf dem Betrieb wurden in zwei Ställen ca. 2.800 bis 5.100 Puten gehalten (abhängig vom Geschlecht bzw. von den sich stetig ändernden, gesetzlichen Vorgaben). Zusätzlich wurden Wetterdaten zu den Ausbruchszeiträumen für eine Analyse gesammelt. Die Daten wurden sortiert und je nach Relevanz mit Hilfe von Microsoft Excel (Microsoft Corporation, 2018. Microsoft Excel, <https://office.microsoft.com/excel>) systematisch erfasst. Unter der Zuhilfenahme der Statistik-Programme SAS Enterprise Guide, Version 7.15 und SAS Software, Version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) wurden die Daten im Vergleich zwischen betroffenen und nicht betroffenen Herden ausgewertet und somit mögliche Eintragsursachen und krankheitsbegünstigende Faktoren unter der Voraussetzung des gleichen Betriebs- und Hygienemanagements identifiziert. Die grafische Darstellung der Ergebnisse wurde mit Hilfe des Programms GraphPad Prism (Version 6.02 für Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.com) umgesetzt. Bei der Aufarbeitung erfuhren wir Unterstützung von Frau Dr. M. Auerbach und Frau R. Lindenwald, PhD (Klinik für Geflügel).

Da während des Projektzeitraums auf dem Lehr- und Forschungsgut kein Histomonose-Ausbruch beobachtet wurde, konnten begleitende und engmaschige Untersuchungen im Rahmen eines Ausbruchgeschehens nicht erfolgen.

4.3. Block 3

Im dritten Block wurden Leber- und Blinddarmproben von 51 Schlachtpartien, welche zum Schlachtzeitpunkt klinisch gesund waren, molekularbiologisch mittels PCR auf das Vorhandensein von *Histomonas meleagridis*-DNA untersucht, um eine Prävalenzschätzung der Histomonose vornehmen zu können. Hierbei wurden sowohl 8 Elterntierherden als auch 43 Masttierherden berücksichtigt. Die zu untersuchenden Proben wurden durch Herrn Dr. D. Mischok am Schlachthof entnommen. Weiterhin generierte und übermittelte Herr Dr. D. Mischok Hintergrundinformationen zu den beprobten Herden bzw. Betrieben. Die Proben wurden postalisch zugesandt. Je 5 Tiere pro Herde wurden gepoolt und separat für den Blinddarm und für die Leber auf den Erreger *Histomonas meleagridis* in der Klinik für Geflügel untersucht. Hierfür konnte auf eine etablierte PCR-Methodik zur Detektion zurückgegriffen werden. Bei der Einführung in die PCR-Methodik unterstützte Frau H. Bartels. Die Hintergrundinformationen wurden mit Hilfe von Microsoft Excel (Microsoft Corporation, 2018. Microsoft Excel, <https://office.microsoft.com/excel>) systematisch erfasst und ausgewertet.

Die Darmmikrobiota wurde aufgrund des fehlenden Nachweises des Erregers nicht weiter untersucht. Wegen des größeren logistischen Aufwandes bei einer Gewinnung von Serumproben am Schlachthof wurden im Rahmen dieses Projektes keine serologischen Untersuchungen durchgeführt, was jedoch in zukünftigen Studien sinnvoll sein könnte.

5. Ergebnisse

5.1. Block 1

Der erste Block wurde basierend auf die Zielsetzungen noch einmal untergliedert.

5.1.1. Ergebnisdarstellung Teil A

Die Antworten von 113 Fragebögen, beantwortet von 73 Kontrollbetrieben und 40 Fallbetrieben, wurden analysiert. Die Teilnehmerate lag somit bei 16,1% (113 von 701 möglichen, putenhaltenden Betrieben in Deutschland mit > 1000 gehaltenen Puten nahmen teil). Dabei nahmen sowohl Betriebe aus dem viehdichten Norden als auch aus dem Süden Deutschlands, mit einer Teilnehmerate von 0,0% - 36,4% je Bundesland, teil.

Herden, die in Ställen gehalten wurden, die nach 1995 erbaut worden waren, hatten eine 30% höhere Wahrscheinlichkeit von einer Histomonaden-Infektion betroffen zu sein, als Herden, die in Ställen gehalten wurden, welche vor 1995 erbaut worden waren (OR = 1,312, $P = 0,702$). Ein geschlossener Stalltyp verdoppelte die Wahrscheinlichkeit eines Histomonose-Ausbruchs im Vergleich zu Louisiana-Ställen (OR = 2,080, $P = 0,123$).

Im Allgemeinen wurden Insekten und Schnecken wenig bekämpft. Jedoch erhöhte die vermehrte Beobachtung von Regenwürmern und/oder Schnecken und/oder Käfern als mögliche (mechanische) Vektoren in der Umgebung von Putenstallungen die Wahrscheinlichkeit eines Ausbruchs um 63,4% ($P = 0,228$) im Vergleich zu Betrieben, die die genannten Vektoren nicht vermehrt beobachten konnten. Geflügelhaltungen in der näheren Umgebung (2 km Radius) von den analysierten Putenhaltungen erhöhten die Wahrscheinlichkeit eines Histomonose-Ausbruchs um das 2,26-fache ($P = 0,079$). Die detaillierte Auswertung zeigte, dass vor allem Masthähnchenhaltungen (OR = 1,215, $P = 0,659$), Putenhaltungen (OR nicht kalkulierbar, aber auffällige deskriptive Datenverteilung: 12,5% der Fallbetriebe und 0,0% der Kontrollbetriebe mit anderen Putenhaltungen in der näheren Umgebung) und andere Geflügelhaltungen (Wachtel, Fasan, Hobby-Haltung; OR = 2,148, $P = 0,116$) das Risiko eines Histomonose-Ausbruchs erhöhten. Die Beobachtung von Singvögeln, Greifvögeln und Kranichartigen in der Nähe von den analysierten, putenhaltenden Betrieben erhöhte rein rechnerisch die Wahrscheinlichkeit eines Ausbruchs um 75,3% ($P = 0,232$) bzw. 22,5% ($P = 0,828$) und 304,6% ($P = 0,101$). Betriebe mit Zufahrtswegen aus Pflastersteinen waren 54,4% häufiger von Histomonose betroffen als Betriebe mit Zufahrtswegen aus Asphalt oder Beton ($P = 0,380$). Ein ähnliches Ergebnis konnte für Zufahrtswege aus Schotter festgestellt werden, indem entsprechende Betriebe eine 2,844-höhere Wahrscheinlichkeit hatten, von Histomonose betroffen zu sein ($P = 0,035$). Der Zugang zu Wartungs- und Nottüren, welche im Außenbereich zu unbefestigtem Boden ohne eine Hygienebarriere führten, erhöhten die Wahrscheinlichkeit eines Ausbruchs um 71,4% im Vergleich zu Betrieben, bei denen diese Türen nicht vorhanden waren oder diese zu befestigtem Untergrund führten ($P = 0,316$). Eine humusreiche Stallumgebung erhöhte die Ausbruchswahrscheinlichkeit um

21,1% im Vergleich zu Betrieben, die in einer sandigen oder lehmigen Umgebung lagen ($P = 0,661$).

Die Verwendung von Stallgeräten außerhalb der Stallungen ($OR = 0,462$, $P = 0,259$) und kein regelmäßiger Wechsel von Desinfektionsmitteln ($OR = 0,480$, $P = 0,149$) bzw. keine Nutzung von Desinfektionsmitteln ($OR = 0,480$, $P = 0,305$) reduzierten scheinbar die Wahrscheinlichkeit eines Ausbruchs um die Hälfte. Betriebe, die die Maschinenreifen vor dem Befahren eines Putenstalls nur manchmal reinigten und/oder desinfizierten, hatten eine 1,404-höhere Wahrscheinlichkeit von einem Ausbruch betroffen zu sein als Betriebe, die die Maschinenreifen jedes Mal reinigten und/oder desinfizierten ($P = 0,453$). Betriebe, die die Reinigungsintensität nach einem Krankheitsausbruch nicht erhöhten, hatten eine 66%-höhere Wahrscheinlichkeit von einem Histomonose-Ausbruch betroffen zu sein als Betriebe mit einer Erhöhung der Reinigungsintensität ($OR = 1,660$, $P = 0,294$).

In der einfaktoriellen- ($OR = 2,797$, $P = 0,015$) und mehrfaktoriellen Analyse ($OR = 2,324$, $P = 0,057$) wurde gezeigt, dass eine wetterabhängige Einstreu- bzw. Nachstrefrequenz die Wahrscheinlichkeit eines Ausbruchs verdoppelte oder sogar beinahe verdreifachte im Vergleich zu Betrieben mit einer regelmäßigen Ein- bzw. Nachstrefrequenz. Stroh als Einstreumaterial erhöhte die Wahrscheinlichkeit eines Ausbruchs im Vergleich zu anderen Einstreumaterialien ($OR = 2,656$, $P = 0,101$). Betriebe, die das Einstreumaterial draußen oder in einer offenen Halle lagerten, hatten eine 1,333-höhere Wahrscheinlichkeit von Histomonaden-Infektion betroffen zu sein als Betriebe, die das Einstreumaterial im Putenstall oder im Vorraum lagerten ($P = 0,772$).

Die Wahrscheinlichkeit eines Ausbruchs stieg um das 1,395-fache an ($P = 0,442$), wenn Puten erst ab der 4. bis 6. Lebenswoche (reine Mastbetriebe) gemästet wurden im Vergleich zu Betrieben, die die Puten ab dem ersten Lebenstag hielten (kombinierte Aufzucht- und Mastbetriebe). Die Haltung von mehreren Altersklassen parallel auf einem Betrieb reduzierte die Ausbruchswahrscheinlichkeit nahezu auf die Hälfte ($OR = 0,461$, $P = 0,060$). Keine Zugangsbeschränkungen zu den Putenstallungen bei einem Krankheitsfall verdoppelte bzw. verdreifachte die Wahrscheinlichkeit eines Histomonose-Ausbruchs ($OR = 1,990$, $P = 0,098$ in der einfaktoriellen Analyse und $OR = 3,283$, $P = 0,009$ in der mehrfaktoriellen Analyse).

Zusammenfassend konnten Hinweise auf folgende, mögliche Eintragswege gefunden werden:

- Einstreumaterialien
- Lücken in der Biosicherheit
- Maschinenreifen
- Nähe zu anderen, für *Histomonas meleagridis* empfänglichen Geflügelhaltungen
- Schuhwerk
- Vektoren
- Wildvogel-Reservoir

5.1.2. Ergebnisdiskussion Teil A

Die Studienpopulation bestand aus einer zufälligen Stichprobe, da keine Liste mit Kontaktdaten putenhaltender Betriebe in Deutschland zur Verfügung stand. Trotz eines angemessenen Umfragezeitraums konnte der kalkulierte Stichprobenumfang nicht erreicht werden. Es wäre wünschenswert gewesen, wenn noch weitere Betriebe, insbesondere betroffene Betriebe sowie Betriebe mit Freilandhaltung mit aber auch ohne eine Historie einer Histomonaden-Infektion an den Befragungen teilgenommen hätten, um eine noch bessere Aussage bezüglich der untersuchten Parameter treffen zu können. Somit konnten einige der Parameter nur beschreibend ausgewertet und vorsichtig interpretiert werden und es musste mit hohen *P*-Werten auf allen Ebenen der Analyse umgegangen werden. Nichtsdestotrotz ist die Teilnehmerrate von 16,1% als gut für eine epidemiologische Feldstudie im Vergleich zu ähnlichen Studien einzustufen. Wir sehen die Studienpopulation als repräsentativ für deutsche, putenhaltende Betriebe an, da die teilnehmenden Betriebe deutschlandweit verteilt lagen, insbesondere was die Teilnahme aus putendichten und weniger putendichten Regionen betrifft.

Da bei allen Fragen die Antwortoption „keine Antwort“ genutzt wurde und die Anzahl der Teilnehmer/-innen zu gering war, konnte keine Selektion unbeantworteter Fragen erfolgen. Dies führte zu einer Verminderung der Aussagekraft der Ergebnisse, was wir bei der inhaltlichen Interpretation berücksichtigen mussten.

Das OR der übrigen, nicht im Ergebnisteil genannten, analysierten Faktoren konnte nicht kalkuliert werden ($n = 3$) oder das Ergebnis wies auf keinen Einfluss hin ($n = 4$). Für 12 Variablen konnte das OR inhaltlich nicht plausibel interpretiert werden. Für nachfolgende Variablen könnte eine umgekehrte Kausalität die Implausibilität der Ergebnisse erklären. Wir vermuten, dass nur Fallbetriebe ausreichend sensibilisiert für eine adäquate Nutzung von Desinfektionsmitteln waren. Demzufolge scheint es, als würde keine Nutzung von Desinfektionsmitteln oder kein Wechsel von Desinfektionsmitteln vor einem Ausbruch schützen. Jedoch schlussfolgern wir, dass nur Fallbetriebe das Desinfektionsmittel regelmäßig wechseln, da sie bereits einen Histomonose-Ausbruch erlebt haben. Die umgekehrte Kausalität könnte auch bei der Interpretation der Ergebnisse zur Nutzung von Stallgerätschaften außerhalb des Putenstalls zutreffen.

Die Studie konnte die einflussreichsten Risikofaktoren, welche auch basierend auf früheren Studien zum Teil bereits angenommen wurden, für einen Eintrag von *Histomonas meleagridis* in einen Putenbestand bestätigen bzw. identifizieren. Nichtsdestotrotz sollten die Ergebnisse aus den genannten Gründen in Folgestudien verifiziert werden.

Im Folgenden werden nur bemerkenswerte/ausgewählte Ergebnisse diskutiert.

Histomonas meleagridis wurden sowohl im Regenwurm und in *Heterakis gallinarum* als auch in mechanischen Vektoren, wie Fliegen und Käfern, nachgewiesen. Unsere Studie weist darauf hin, dass eine humusreiche

Stallumgebung die Ausbruchswahrscheinlichkeit erhöht, indem den genannten Vektoren eine attraktive Umgebung geboten wird. Der Erreger kann jahrelang in Regenwürmern persistieren. Andere Ergebnisse der Studie verweisen darauf, dass unbefestigte Zufahrtswege und die Nutzung von Not- und Wartungstüren, welche zu unbefestigtem Boden außerhalb der Stallungen führen, einen Erregereintrag durch Schuhe und Maschinenreifen begünstigen könnten. Die geringe Frequenz der Insekten- und Schneckenkontrolle lässt eine geringe Dichte dieser Vektoren in der Umgebung der analysierten Betriebe vermuten. Jedoch scheint die vermehrte Beobachtung von Regenwürmern, Schnecken und Käfern das Risiko eines Ausbruchs zu erhöhen. Da die Beobachtung und das tatsächliche Vorkommen von Vektoren nicht unbedingt deckungsgleich sein müssen, könnte eine Verzerrung des Ergebnisses vorliegen. Hier könnte die umgekehrte Kausalität die Studienergebnisse dahingehend beeinflusst haben, dass Fallbetriebe nach einem Ausbruch Vektoren bewusster beobachtet und wahrgenommen haben als Kontrollbetriebe. Der Erreger kann ohne die Aufnahme durch Vektoren nur einen kurzen Zeitraum in feuchter Umgebung überleben. Kontaminierte Regenwürmer könnten sich in die Feuchtigkeit der Einstreu zurückgezogen haben und somit das Potential einer Infektion erhöht haben. Geschlossene Stalltypen sind im Vergleich zu offenen Louisiana-Ställen mit einem anderen Klimamanagement verbunden, was zu einem höheren Maß an Problemen in der Klimasteuerung in geschlossenen Stallhaltungen führen könnte und damit die Chancen auf einen Ausbruch höher sind. Eine unregelmäßige Ein- bzw. Nachstrefrequenz könnte ebenfalls zu einer erhöhten Feuchtigkeit in Putenstallungen bzw. im Einstreumaterial beitragen. Weiterhin könnte eine unregelmäßige Einstrefrequenz den Kontakt zu *Histomonas meleagridis*-infiziertem Kot erhöhen und somit die kloakale Infektionsrate erhöhen.

Ein Erregereintrag könnte auch über Wildvögel stattfinden, worauf Ergebnisse der Studie hinweisen. Wildvögel könnten den Erreger durch die Kontamination von Stroh mit ihrem Kot, entweder auf dem Feld oder in wildvogelunsicheren Lagerhallen, in eine Putenherde eintragen. Ein Erregereintrag über kotverunreinigte Maschinenreifen oder Schuhe scheint ebenfalls möglich zu sein. Aus den genannten Gründen sollte eine Putenherde sowie das Futter und das Einstreumaterial strikt vor einem Wildvogelkontakt geschützt werden.

Eine hohe Dichte von Geflügelhaltungen könnte ebenfalls zu einer Erregerverschleppung beitragen. Die Studienergebnisse weisen auf ein erhöhtes Ausbruchsrisiko durch die Nähe zu anderen Masthähnchen- und Hobbyhaltungen hin. Vor allem Hobbyhaltungen weisen im überwiegenden Teil einen geringeren Biosicherheitsstandard als kommerzielle Geflügelhaltungen auf, sodass ein Kontakt zu Vektoren und Wildvögeln sehr üblich ist. Biosicherheitsmaßnahmen und Kreuzkontaminationen, beispielsweise durch Fahrzeuge, könnten zu einer Übertragung zwischen Betrieben in einer Region führen. Aus diesem Grund sollten in geflügeldichten Regionen hohe Biosicherheitsstandards angestrebt werden.

Die Ergebnisse zeigen auch, dass ein Erregereintrag über unbelebte Vektoren, wie beispielsweise Schuhe, Maschinenreifen oder Einstreumaterial, möglich erscheint. Auch der Transport von Puten von den Aufzucht- zu den

Mastbetrieben könnte zu einer Erhöhung der Ausbruchswahrscheinlichkeit beigetragen haben, indem Transportfahrzeuge mit *Histomonas meleagridis* kontaminiert sein könnten, was auch für anderen Erreger, beispielsweise dem aviären Influenzavirus, nachgewiesen wurde. Weiterhin scheinen Betriebe, welche mehrere Altersklassen parallel betreuen, umfangreichere bzw. angemessenere Hygienemaßnahmen durchzuführen, und könnten aus diesem Grund eine geringere Ausbruchswahrscheinlichkeit aufweisen als Betriebe, welche nur eine Altersklasse betreuen.

Auch ein eingeschränkter Zugang zu den Putenstallungen könnte den Erregereintrag verringern. Erhöhte Reinigungsmaßnahmen nach einem Krankheitsfall scheinen das Risiko eines Histomonose-Ausbruchs zu verringern, indem möglicherweise der Erreger effektiv aus der Umgebung entfernt werden kann. Der Eintrag von *Histomonas meleagridis* über unbelebte Vektoren in einen Putenbestand ist möglicherweise nur in der zystenartigen Erregerform möglich. Jedoch ist bisher nicht bekannt, in welchem Ausmaß dieses Stadium im Feld verbreitet ist und wie lange es ohne die Aufnahme durch Vektoren überlebensfähig ist. In einer experimentellen Studie konnte der Erreger bis zu eine Stunde auf Gummimaterialien und bis zu sechs Stunden im Einstreumaterial überleben. Es besteht in Hinsicht auf die Tenazität und das Vorkommen des zystenartigen Erregerstadiums noch weiterer Forschungsbedarf.

Zusammenfassend diente die retrospektive Fall-Kontroll-Studie zur erstmaligen und systematischen Erfassung von möglichen Eintragungswegen des Erregers *Histomonas meleagridis* in einen deutschen Putenbestand. Das Bewusstsein für adäquate Biosicherheitsmaßnahmen ist seit dem Verbot wirksamer Prophylaktika und Therapeutika gestiegen. Nichtsdestotrotz weisen unsere Studienergebnisse darauf hin, dass unangemessene Biosicherheitsmaßnahmen einen Histomonose-Ausbruch begünstigen können. Aus diesem Grund sollten regelmäßige Reinigungs- und Desinfektionsfrequenzen von den Stallungen, von Stallgeräten und von Maschinen, vor allem in geflügeldichten Regionen umgesetzt und langfristig eingehalten werden. Der Eintrag von Vektoren und Wildvögeln in einen Putenstall sollte strikt vermieden werden. Ein Wildvogelscreening auf *Histomonas meleagridis* und *Heterakis gallinarum* ist für Deutschland empfehlenswert, um die Prävalenz und das damit einhergehende Risiko einer Erregerverbreitung über Wildvögel einschätzen zu können. Um begünstigende Bedingungen für das Überleben des Erregers *Histomonas meleagridis* zu vermeiden, sollte das Stallklima während der gesamten Aufzucht- und Mastzeit kontinuierlich überwacht und kritisch angepasst werden. Außerdem sollte ein adäquates Einstreumanagement erfolgen.

5.1.3. Ergebnisdarstellung Teil B

30 Betriebe mit Mastputenhaltung nahmen an der Feldstudie teil. Zwei Betriebe waren reine Aufzuchtbetriebe, 16 Betriebe waren kombinierte Aufzucht- und Mastbetriebe und 12 Betriebe waren reine Mastbetriebe. Außerdem nahm ein Betrieb mit Elterntierhaltung teil. 18 der teilnehmenden Betriebe haben bereits mehrere Histomonose-Ausbrüche durchlaufen. 32% der analysierten Betriebe hatten eine betroffene Herde bis zu 10 Tage vor einem Histomonose-Ausbruch transportiert und umgestallt. Weiterhin wurden 24 der 31 analysierten Ausbrüche in der wärmeren Jahreszeit zwischen Juni und September diagnostiziert (Abbildung 1).

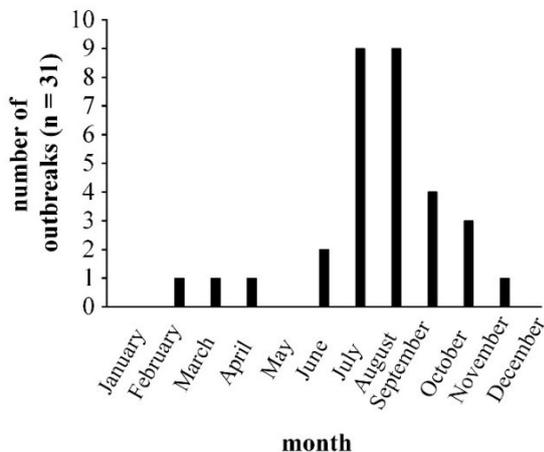


Abbildung 1: Saisonale Verteilung der analysierten Ausbrüche auf 31 Betrieben (zitiert aus „Investigations of histomonosis-favouring conditions: a field study“, eingereicht bei *Avian Pathology*).

Die meisten Ausbruchsställe waren von dichter Vegetation umgeben. 45% der analysierten Betriebe beobachteten vor allem Käfer und Fliegen in den Ausbruchsstellungen. Hingegen bekämpften nur 29% der analysierten Betriebe Insekten (Tabelle 2). Weiterhin konnten auf 74% der analysierten Betriebe Risse und Fugen in den Stallböden vorgefunden werden.

Tabelle 2: Beobachtung und Bekämpfung von Insekten in betroffenen Putenställen

		Beobachtung von Insekten		
		Ja	Nein	Σ
Insektenkontrolle	Ja	4	3	7
	Nein	10	14	24
Σ		14	17	31

27 Betriebe konnten eine Hygieneschleuse vorweisen, während die übrigen vier Betriebe sogar zwei Hygieneschleusen installiert hatten. In den meisten

Betrieben war ein Waschbecken mit Handwaschseife vorhanden (Abbildung 2).

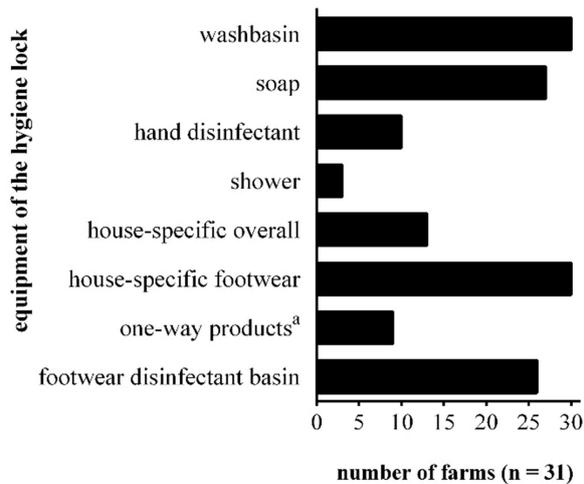


Abbildung 2: Vorgefundene Einrichtung der Hygieneschleusen (zitiert aus „Investigations of histomonosis-favouring conditions: a field study“, eingereicht bei *Avian Pathology*)

^a = Einweghandschuhe und/oder Einweghaarnetz und /oder Einwegschuhe und/oder Einwegoverall

Nur 42% der teilnehmenden Betriebe nutzten stallspezifische Kleidung. In den anderen Fällen wurde Arbeitskleidung getragen, welche auch außerhalb der Stallungen genutzt wurde. Selten wurden Einwegprodukte verwendet. Jedoch trugen 30 Landwirte/-innen stalleigene Stiefel, wofür auf 26 Betrieben auch eine Desinfektionseinrichtung vorhanden war. Die Kleidung wurde auf 20 von 31 Betrieben mindestens wöchentlich gereinigt. Jedoch wurden die stalleigenen Stiefel zu 70% seltener als wöchentlich nass gereinigt. Auch die Einrichtungen zur Stiefeldesinfektion wurden in 73% seltener als wöchentlich gereinigt und neu befüllt. 55% der Betriebe reinigten die Hygieneschleuse mindestens einmal wöchentlich nass. Jedoch fand eine wöchentliche Desinfektion der Hygieneschleuse nur auf 20% der Betriebe statt. Im Gegensatz dazu wurden die Kadaverlagerplätze regelmäßig gereinigt und desinfiziert. 30 Betriebe nutzten sowohl leicht- als auch schwer zu reinigende Beschäftigungsmaterialien über mehrere Mastdurchgänge (Tabelle 3).

Tabelle 3: Wahrscheinlicher Reinigungserfolg der genutzten Materialien für Beschäftigungsmöglichkeiten und die Wiederverwendung entsprechender Materialien, n = 30 (ein Betrieb nutzte kein Beschäftigungsmaterial während des Ausbruchzeitraums).

		Beschäftigungsmaterial		Σ
		Leicht zu reinigen	Schwer zu reinigen	
Wieder- verwendung	Ja	3	9	12
	Nein	4	14	18
Σ		7	23	30

Die analysierten Herden wurden gegen zahlreiche Erkrankungen geimpft und mehr als 60% der Betriebe unterbrachen das Impfprogramm während eines klinischen Histomonose-Ausbruchs. Die letzte Impfung der betroffenen Betriebe lag durchschnittlich 14 Tage vor einem Ausbruch.

Vorerkrankungen herrschten in 23 der analysierten Herden vor (Abbildung 3).

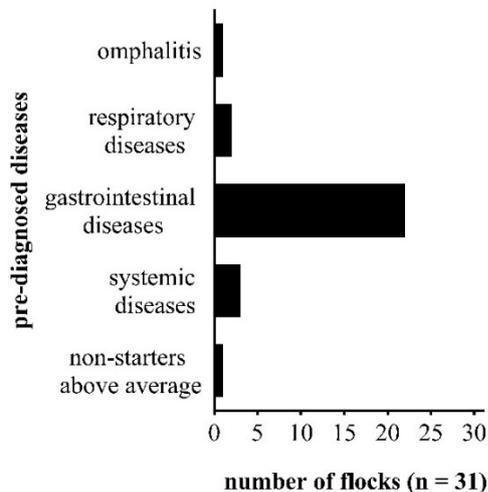


Abbildung 3: Vorbelastungen der analysierten Herden und dessen Verteilung (zitiert aus „Investigations of histomonosis-favouring conditions: a field study“, eingereicht bei *Avian Pathology*)

70% der Herden waren mit gastrointestinalen Erkrankungen vor dem Ausbruch der Histomonose vorbelastet. Dabei waren Pathogene wie *Escherichia coli*, *Eimeria spp.* und *Clostridium spp.* nachweisbar (Tabelle 4).

Tabelle 4: Zusätzliche Belastungen durch gastrointestinale Pathogene und die damit verbundenen Behandlungen (Koinfektionen wurden nicht dokumentiert)

	Behandlung	
	Ja	Nein
<i>Escherichia coli</i>	18 ^a	1
<i>Eimeria spp.</i>	14 ^b	0
<i>Clostridium spp.</i>	8 ^a	0

^a = Behandlung mit Antibiotika

^b = Behandlung mit Antiparasitika

Die Mortalität bedingt durch die Histomonaden-Infektion lag im Median bei 25% (Spanne 4% - 100%). Dabei traten klinische Symptome im Median am 46. Lebenstag auf und dauerten etwa 21 Tage an. Unmittelbar nach dem Auftreten erster klinischer Symptome wurden auf allen Betrieben pathologische Untersuchungen durchgeführt, welche immer zur Diagnose der Histomonose führten. Es wurden auch weitere diagnostische Tests eingesetzt, um den Erreger *Histomonas meleagridis* und mögliche Sekundärerreger zu identifizieren. Ein Nachweis von *Histomonas meleagridis*-DNA gelang in 27 von 28 Fällen. Ein Behandlungsversuch wurde in 30 Herden durchgeführt, wobei in 27 Fällen Paromomycin eingesetzt wurde. In 45% der Herden wurden pflanzliche Produkte eingesetzt. Jedoch

berichteten nur fünf Landwirte/-innen von einer zeitnahen klinischen Besserung der Herde.

Alle Herden wurden mindestens zweimal täglich kontrolliert. In 65% der analysierten Betriebe wurden erkrankte Herden öfters als zweimal kontrolliert. 29 Landwirte/-innen gaben an, schwer erkrankte Tiere aus Tierschutzgründen getötet haben zu müssen. Die Kadaver wurden unverzüglich in gekühlten, verschlossenen Behältern gelagert. Radlader (5/31) und Schubkarren (12/31) wurden genutzt, um die Kadaver aus den Ställen zu transportieren. Dabei wurden die Kadaver durch Nottüren (9/31), Stalltore (21/31) und/oder die Hygieneschleuse aus dem Stall transportiert (28/31). Obwohl fast alle Landwirte/-innen stallspezifische Kleidung in einem Ausbruchsfall trugen, begrenzten nur 61% der analysierten Betriebe die Parallelnutzung von Stallgerätschaften während eines Ausbruchs.

Der infizierte Mist wurde auf sechs von 31 Betrieben auf umliegende Ackerflächen ausgebracht. In den meisten Fällen wurde der Mist jedoch in Biogasanlagen eingeführt (23/31). Jedoch desinfizierten nur zwei Betriebe vor der Entsorgung den infizierten Mist.

Des Weiteren konnten einige zufällige Ereignisse erfasst werden. Vier Landwirte/-innen beobachteten parallel zahlreiche Regenwürmer und einen Wassereinbruch in den Putenstall vor einem Histomonose-Ausbruch.

Auf drei Betrieben wurden vor einem Ausbruch Wildvögel direkt im Putenstall beobachtet (Krähen, Greifvögel). Wildvögel dienen wie bereits ausgeführt als Reservoir für *Histomonas meleagridis*.

Fünf weitere Landwirte/-innen konnten in einem zeitlichen Zusammenhang mit dem Histomonaden-Ausbruch Ernte- oder Feldarbeiten und ein vermehrtes Windaufkommen beobachten. Außerdem wurde frisch geerntetes Stroh in fünf infizierten Herden als Einstreumaterial verwendet.

Es konnten zusammenfassend folgende, mögliche ausbruchs- und krankheitsbegünstigende Faktoren der Histomonose identifiziert werden:

- unzureichendes Risikobewusstsein in Bezug auf:
 - Biosicherheitsmanagement
 - Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen
 - Erregereintrag durch Vektoren und durch ein Wildvogel-Reservoir
- Vorerkrankungen
- Antibiotische Vorbehandlungen
- Möglicher Stress durch Umstallung
- Jahreszeit

5.1.4. Ergebnisdiskussion Teil B

Unsere Ergebnisse bestätigen frühere Feldstudien, bei denen sowohl Mast- als auch Elterntierhaltungen von der Histomonose betroffen waren. Trotz eines guten, allgemeinen Risikobewusstseins teilnehmender Landwirte/-

innen, deuten die wiederkehrenden Ausbrüche auf einem Betrieb auf begünstigende Umstände eines Wiedereintrages des Erregers oder auf eine Erregerpersistenz in der Umgebung hin.

Umstellungen können nicht nur einen Erregereintrag begünstigen, sondern auch Stress fördern, indem entzündungsfördernde Faktoren produziert werden und eine Immunsuppression ausgelöst werden kann. Die genannten Prozesse können den Verlauf einer klinischen Histomonose negativ beeinflussen. Außerdem kann spekuliert werden, dass der Stress die Replikation des Erregers in infizierten Tieren begünstigt, was zu einer vermehrten Ausscheidung und infolgedessen zu einer massiven Verbreitung innerhalb einer Herde führen kann.

Die Beobachtung der saisonalen Häufung von Ausbrüchen bestätigt frühere Feldstudien. Da 18 Landwirte/-innen von extremer Trockenheit während des Ausbruchzeitraums berichteten, kann von hohen, vorherrschenden Außentemperaturen ausgegangen werden, welche ein adäquates Klimamanagement der Putenställe notwendig machen. Temperatur-bedingter Stress kann das Darmmikrobiom durch hypoxische Zustände negativ beeinflussen. Durch eine Permeabilitätserhöhung der Darmbarriere könnte es zu einer Streuung von *Histomonas meleagridis* in der Pute gekommen sein, was einen schwereren, klinischen Verlauf begünstigt haben könnte. Weiterhin könnte der Temperatur-bedingte Stress das Darmmikrobiom dahingehend beeinflusst haben, dass mehr *Histomonas meleagridis*-fördernde Keime vorhanden waren.

Die vorgefundenen Umgebungsbedingungen mit einer dichten Vegetation auf den meisten Betrieben schienen begünstigend für die Ansiedlung potentieller Vektoren des Erregers *Histomonas meleagridis* zu sein. Die Vegetation soll zum einen Emissionen kontrollieren, kann somit aber auch einen negativen Einfluss auf den Infektionsdruck im Stall haben, was die widersprüchlichen Anforderungen an Geflügelhaltungen verdeutlicht.

Die beobachteten Insekten in den Ställen könnten als Vektor des Erregers gedient haben. Die unzureichende Bekämpfung von Insekten könnte ein erhöhtes Risiko eines Erregereintrages darstellen. Die baulichen Strukturen der Ausbruchsställe könnten das Überleben des Erregers trotz Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen begünstigt haben, indem er Rückzugsnischen gefunden haben könnte. Somit könnte wiederum auch ein Wiederauftreten der Histomonose auf einem Betrieb begründet werden.

Die vorherrschenden Biosicherheitsmaßnahmen, Reinigungs- sowie Desinfektionsprozesse verdeutlichen, dass ein gewisses Risikobewusstsein unter den teilnehmenden Landwirten/-innen vorhanden ist. Jedoch sind einige Defizite in der Umsetzung aufgefallen, welche einen Eintrag von *Histomonas meleagridis* und anderen Histomonose-begünstigenden Keimen sowie eine Erregerverschleppung zwischen Putenstallungen begünstigt haben könnten.

Die Wiederverwendung von schwer zu reinigenden Materialien (v.a. Picksteine) als Beschäftigungsmöglichkeit der Puten stellt ein Risiko der Erregerverbreitung und -verschleppung dar.

Die Daten zeigen auf, dass die Landwirte/-innen ein gutes, allgemeines Risikobewusstsein in Bezug auf Impfstress besitzen.

Jedoch können die nachgewiesenen Pathogene, mit denen die Herden nachweislich vorbelastet waren, eine klinische Histomonose begünstigt haben oder *Histomonas meleagridis* wiederum Erkrankungen durch die genannten Pathogene gefördert haben. Weiterhin könnten die mit den Vorerkrankungen verbundenen, antibiotischen Behandlungen zu einer Imbalance im Gastrointestinaltrakt geführt haben, was wiederum eine Überrepräsentation *Histomonas meleagridis*-fördernder Keime begünstigt haben könnte. Diese Hinweise gilt es jedoch in weiteren Studien zu bestätigen.

Die Ergebnisse unserer Erhebungen zu dem ausbleibenden Erfolg der Histomonose-Behandlungen in zahlreichen Fällen stimmen mit anderen Studien überein, bei denen sowohl Paromomycin, als auch pflanzliche Produkte nur *in vitro* zuverlässige Wirkungen zeigten jedoch nicht im Tier. Die Nottötung in einem Drittel der analysierten Fälle unterstreicht den tierschutzrelevanten Therapienotstand noch einmal deutlich.

Die häufige Nutzung von Stallgerätschaften in erkrankten und gesunden Herden stellt ein Risiko für eine Erregerverschleppung dar.

Da zahlreiche Pathogene über die Luft aus mit Mist gedüngtem Erdboden übertragen werden können, stellt die Verteilung des infizierten Mists in der Nähe von putenhaltenden Betrieben eine Gefahr der Erregerakkumulation dar. Dies könnte ebenfalls ein Wiederauftreten der Histomonose auf einem Betrieb oder ein Auftreten in der nicht prädisponierten Jahreszeit begünstigen. Auch eine offene Mistlagerung könnte zu einer Erregerverbreitung über Wildvögel beigetragen haben.

Der beobachtete Wassereinbruch in die Stallungen könnte die Attraktivität des Stallinneren für Regenwürmer, welche als Vektoren dienen, erhöht haben. Auch die Wildvogeleinträge könnten sekundär zu einem Erregereintrag beigetragen haben.

Kontaminierte Staubpartikel könnten auch als Quelle eines Erregereintrages dienen. Ein Eintrag auf diesem Weg wurde schon für zahlreiche, andere Erreger nachgewiesen. Jedoch setzt diese Übertragungsrouten die Persistenz des Erregers in der Umwelt in Vektoren oder möglicherweise als zystenähnliches Stadium voraus. Da die analysierten Ausbrüche zum Teil auf benachbarten Betrieben auftraten, welche im Median 3,5 Kilometer voneinander entfernt lagen, kann eine Übertragung über die Luft nicht ausgeschlossen werden. Stroh kann durch zahlreiche Pathogene kontaminiert sein. Gerade wenn Stroh von Flächen, welche mit *Histomonas meleagridis*-infiziertem Mist gedüngt worden waren, geerntet und als Einstreu für Puten genutzt wird, besteht eine hohe Infektionsgefahr.

Das Risikobewusstsein in Bezug auf einen Erregereintrag bzw. auf eine Erregerverschleppung über Insekten, Wildvögel oder infizierten Mist sollte durch die Schulung der Landwirte/-innen verbessert werden. Der Erregereintrag über unbelebte Vektoren sollte im Detail weiter erforscht werden.

5.1.5. Ergebnistransfer

Die bereits im Dezember 2021 vorliegenden Ergebnisse des A-Teils des ersten Blocks wurden auf einem Online-Seminar, welches gemeinsam mit dem ZDG organisiert worden war, vorgestellt (**Anlage 10**). An dem Seminar nahmen sowohl interessierte Tierhalter/-innen als auch bestandsbetreuende Tierärzte/-innen teil. Des Weiteren erschien im Januar 2022 ein Bericht über die vorläufigen Ergebnisse in der DGS (**Anlage 11**). Weiterhin ist eine Fachveröffentlichung der Ergebnisse geplant (**Anlage 12**).

Die Ergebnisse des B-Teils sollen gemeinsam mit den Ergebnissen des A-Teils über die geplante Ergebnis-Mitteilung den teilnehmenden Tierhaltern/-innen zugänglich gemacht werden (**Anlage 13**). Auch für den B-Teil des ersten Blocks ist eine Fachveröffentlichung der Ergebnisse geplant (**Anlage 14a** und **14b**).

Alle bereits genannten und noch im Folgenden genannten Fachveröffentlichungen sind Teil einer im Rahmen des Projektes angefertigten Dissertation (**Anlage 15**).

5.2. Block 2

5.2.1. Ergebnisdarstellung

Zwischen den Jahren 2007 und 2021 waren 12 der 32 analysierten Herden auf dem Lehr- und Forschungsgut Ruthe mit *Histomonas meleagridis* infiziert (Tabelle 5). Der erste Ausbruch fand 2007 in einer männlichen Herde statt. Dabei waren beide Putenställe des Betriebes, welche nur durch eine einfache Tür ohne Hygieneschleuse voneinander getrennt sind, in einem Abstand von 19 Tagen betroffen. Im ersten Stall starben 52 Tiere, im zweiten 797. Nach sechs Jahren ohne Histomonose-Ausbrüche fand der zweite Ausbruch ebenfalls in einer männlichen Herde statt. Bei diesem Ausbruch war nur einer der beiden Ställe mit insgesamt 1046 Tierverlusten betroffen. Drei aufeinanderfolgende, männliche Herden waren dann zwischen 2013 und 2014 mit *Histomonas meleagridis* infiziert. In der dritten Herde starben pro Stall neun Tiere. In der vierten, *Histomonas meleagridis*-positiven Herde starben sechs bzw. zehn Tiere aus beiden Ställen. Drei Verluste waren in der fünften Histomonas-positive Herde zu verzeichnen. 2015 war die sechste Herde *Histomonas meleagridis*-positiv. Dabei starben 32 Hähne aus dem ersten und 192 Tiere aus dem zweiten Stall. Die darauffolgende Herde war ebenfalls von Histomonas betroffen und verzeichnete eine sehr hohe Verlustrate je Stall. Der achte Ausbruch ging mit 444 bzw. 575 Verlusten einher. Der erste Ausbruch in einer Hennen-Herde wurde 2017 aufgezeichnet. Dabei starben 40 Hennen pro Stall an Histomonose. 2018 fand im ersten Stall ein Ausbruch mit zwei Verlusten statt. Es folgte der elfte Ausbruch mit einem Verlust pro Stall. Der letzte Ausbruch fand 2020 mit einem Verlust im ersten Stall statt.

Tabelle 5: Produktionsdaten der *Histomonas meleagridis*-positiven Herden (männlich: Herde 1-8, weiblich: Herde 9-12), welche zwischen 2007 und 2020 gehalten wurden

Herden- Nummer	Jahr	Dauer Service- periode (Tage) ^a	Kumulative Mortalität (%)		Therapie der Histomonose ^c
			Stall 1	Stall 2	
männlich					
1	2007	9	8,6	56,7	-
2	2013	28	77,7	7,2 ^b	Kupfersulfat
3	2013	7	5,3	10,3	-
4	2014	18	6,6	5,5	-
5	2014	10	7,9	8,9	-
6	2015	14	9,4	18,7	-
7	2016	27	94,7	98,3	Oregano-Öl
8	2016	4	38,0	46,8	Paromomycin, Kupfersulfat
weiblich					
9	2017	185	6,1	6,0	Levamisol, Vitamine
10	2018	14	2,6	1,8 ^B	-
11	2019	25	3,1	3,1	-
12	2020	122	2,6	1,7 ^B	-

^a Dauer der Serviceperiode vor der Einstellung einer *Histomonas meleagridis*-infizierten Herde (Tage).

^b Keine Histomonosis-Diagnose in diesem Stall.

^c Unbehandelte Herden sind mit "-" markiert.

Acht der 20 analysierten, männlichen Herden und vier der 12 analysierte, weiblichen Herden waren *Histomonas meleagridis*-positiv. Die ersten acht Ausbrüche fanden in männlichen Herden statt. Nach zwei Ausbrüchen mit hohen Mortalitätsraten im Jahr 2016 entschied sich der Landwirt Puten-Hennen zu mästen. Trotz einer ausgedehnten Serviceperiode von 185 Tagen, infizierte sich die ersten Hennen-Herde ebenfalls mit *Histomonas meleagridis*. Interessanterweise konnten signifikante Unterschiede in der Mortalität zwischen männlichen- und weiblichen, infizierten Herden beobachtet werden ($P \leq 0,05$; Abbildung 4). Dabei scheinen männliche Herden schwerer bei einem Histomonose-Ausbruch betroffen zu sein, als weibliche Herden.

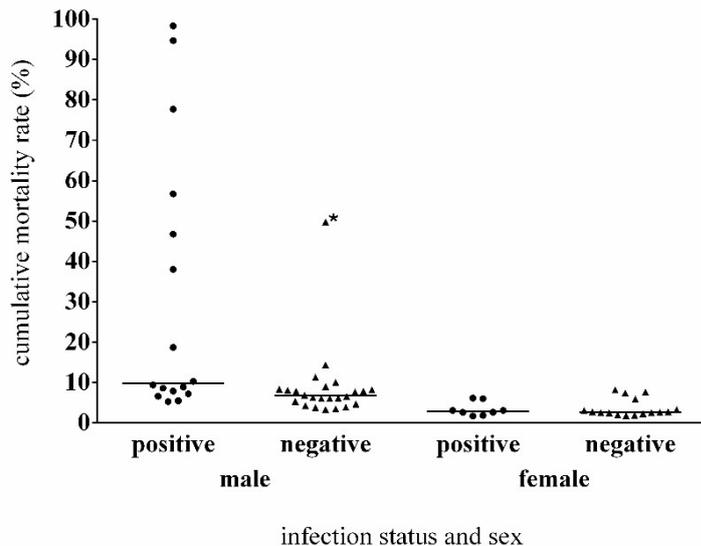


Abbildung 4: Vergleich der kumulativen Mortalitätsrate (in %; berücksichtigt alle Todesursachen) sowohl zwischen männlichen und weiblichen Herden als auch zwischen *Histomonas meleagridis*-positiven und -negativen Herden, jedes Symbol repräsentiert einen *Histomonas meleagridis*-positiven Stall; --- = Median; * = beeinflusst durch Kannibalismus-Probleme (zitiert aus: „Retrospective investigations of recurring histomonosis on a turkey farm“ eingereicht bei *Avian Diseases*).

Bei der Mehrzahl der 12 Ausbrüche wurde der erste pathologische Verdacht parallel zur ansteigenden Mortalitätsrate geäußert. Nichtsdestotrotz stieg in der ersten, infizierten Herde die Mortalitätsrate bereits 14 Tage vor der Verdachtsäußerung an. Im Gegensatz dazu wurden in der achten, infizierten Herde bereits drei Wochen vor Anstieg der Mortalitätsrate erste pathologische Hinweise detektiert.

Die saisonale Verteilung der Ausbrüche ist in der Abbildung 5a dargestellt. Neun der 12 Ausbrüche wurden in der wärmeren Jahreszeit zwischen Juni und September beobachtet. Nur drei Ausbrüche waren in den Wintermonaten zu verzeichnen. Dabei stellten wir interessanterweise fest, dass Ausbrüche unter einer Außentemperatur von 5°C oder über 13°C diagnostiziert wurden. Ein Vergleich des Medians der Außentemperatur während der Haltung von *Histomonas meleagridis*-positiven und -negativen Herden zeigt auf, dass die mediane Außentemperatur während der Ausbrüche signifikant höher war, als während der Haltungszeit negativer Herden ($P \leq 0,05$; Abbildung 5b). Dieser Trend wurde auch bei den Stallinnentemperaturen während des Vergleichs *Histomonas meleagridis*-positiver und -negativer Herden beobachtet.

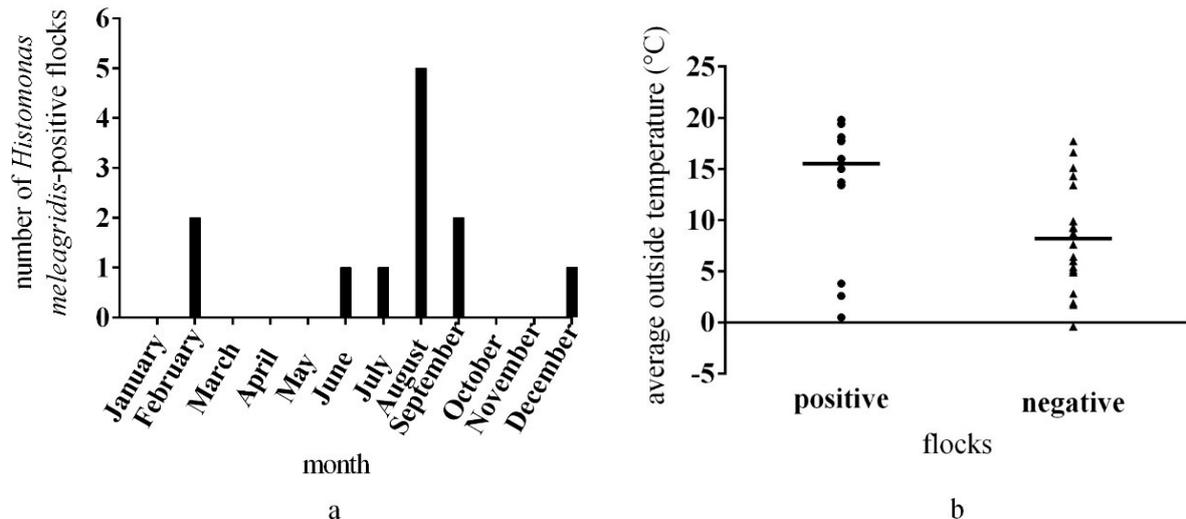


Abbildung 5: (a) Saisonale Verteilung der Histomonos-Ausbrüche und (b) Vergleich des Medians der Außentemperaturen während der Haltungzeit *Histomonas meleagridis*-positiver und -negativer Herden (zitiert aus: „Retrospective investigations of recurring histomonosis on a turkey farm“ eingereicht bei *Avian Diseases*).

Um einen möglichen Einfluss des Wetters weiterführend zu untersuchen, verglichen wir die Niederschlagsmengen vor, während und nach einem Histomonose-Ausbruch. Die Niederschlagsmengen waren zu allen drei Zeitpunkten im Mittel annähernd gleich (23.0 mm, 21.9 mm und 20.8 mm pro Tag), sodass wir keinen Einfluss detektieren konnten.

In allen 12 *Histomonas meleagridis*-positiven Herden wurden ebenfalls *Escherichia coli*-Septikämien dokumentiert. Dieser Befund wurde auch in 19 der 20 *Histomonas meleagridis*-negativen Herden gestellt. Weiterhin waren drei der 12 positiven- und 11 der 20 negativen Herden mit *Eimeria spp.*-assoziiierter Enteritis belastet. Eine zusätzliche Belastung durch Clostridien wurde in vier positiven- und sieben negativen Herden dokumentiert. Die Virulenz der Keime wurde jedoch nicht bestimmt, sodass abschließend durch unsere Untersuchungen kein prädisponierender Einfluss auf die Darmgesundheit abgeleitet werden kann.

Weiterhin identifizierten wir einen möglichen Histomonose-begünstigenden Einfluss der Biosicherheitsmaßnahmen auf das Vorkommen von Ausbrüchen. Bei acht der 12 infizierten Herden waren Tiere beider Ställe betroffen, was mit Wahrscheinlichkeit auf eine fehlende Hygieneschleuse zwischen den beiden Ställen zurückzuführen ist.

Weiterhin könnte die Haltung mehrerer *Histomonas meleagridis*-empfindlicher Gefügelarten auf dem analysierten Betrieb einen Risikofaktor darstellen. Legehennen dienen dem Erreger nachweislich als Reservoir. Auch Masthähnchen und Enten können sich mit *Histomonas meleagridis* infizieren. Außerdem sind Legehennen oftmals mit, *Heterakis gallinarum*, einem wesentlichen Vektor für *Histomonas meleagridis*, infiziert. Obwohl die Legehennen-Ställe ca. 300 m von den Puten-Ställen entfernt sind, könnten Personen oder Fahrzeuge den Erreger verschleppt haben. 2018 fand ein *Histomonas meleagridis*-Nachweis zeitgleich im Legehennen-Bestand und im Puten-Bestand statt.

Zusammengefasst konnten Hinweise auf folgende Eintragswege des Erregers detektiert werden:

- Lücken in der Biosicherheit
- Haltung mehrerer, für *Histomonas meleagridis* empfängliche Geflügelarten

Des Weiteren konnten folgende, mögliche krankheitsbegünstigende Faktoren der Histomonose identifiziert werden:

- Männliches Geschlecht
- Jahreszeit

5.2.2. Ergebnisdiskussion

Die retrospektive Datenanalyse bestätigt, trotz gleichbleibender Betriebs- und Stallbedingungen, andere Studien, die ebenfalls zeigten, dass die Verläufe von Histomonose-Ausbrüchen sehr variabel sein können. Die meisten Herden zeigten eine erhöhte Mortalitätsrate über ca. sechs Wochen, was ebenfalls frühere Studien bestätigt. Dabei fanden die meisten Ausbrüche zwischen der vierten und sechsten Lebenswoche statt. Dementsprechend konnten keine Ausbrüche in den ersten drei Lebenswochen erfasst werden, was jedoch vermutlich nicht, wie bei anderen Pathogenen gezeigt, durch einen maternalen Schutz begründet werden kann. In einer experimentellen Studie wurde belegt, dass eine passive Immunisierung mit Antikörpern nicht vor einem Ausbruch einer klinischen Histomonose schützt. Jedoch wurden auch Histomonose-Ausbrüche in Elterntierherden dokumentiert, weshalb es möglich erscheint, dass maternale Antikörper an die Küken weitergegeben werden können. Jedoch besteht hierzu weiterer Forschungsbedarf.

Weiterhin bestätigen unsere Analysen andere Studien, welche ebenfalls einen schwereren Verlauf der Histomonosis in männlichen Herden beobachten konnten. Jedoch existieren auch Beobachtungen, bei denen kein Einfluss des Geschlechts erkannt werden konnte. Die geschlechtsbedingten Verlaufsunterschiede könnten durch eine variable Immunantwort begründet werden. Für Masthähnchen ist es bereits bewiesen, dass weibliche Tiere bis zu drei Tage eher und stärker auf verschiedene Pathogene, wie beispielsweise auf *Escherichia coli* oder auf das Newcastle Diseases-Virus, reagieren, als männliche Tiere.

Die beobachtete saisonale Häufung spiegelt ebenfalls die Ergebnisse anderer Wissenschaftler/-innen wieder. Es ist möglich, dass die erhöhte Außentemperaturen einen Ausbruch durch das Hervorrufen von Temperatur-bedingtem Stress oder durch ein höheres Eintragsrisiko des Erregers beeinflusst haben können. Unsere Daten zeigen auf, dass höhere Temperaturen einen Histomonose-Ausbruch begünstigen. Die vorherrschenden erhöhten Temperaturen könnten zu höheren Enthalpie-Werten geführt haben, was wiederum Temperatur-bedingten Stress bei den betroffenen Herden hervorgerufen haben könnte. Die optimale Haltungstemperatur um das durchschnittliche Ausbruchsalter der analysierten Herden beträgt 13-21°C. Temperatur-bedingter Stress kann den Blutfluss im Darmtrakt dahingehend beeinflussen, dass Darmbereiche unterversorgt werden. Dies begünstigt entzündliche Reaktionen, welche zu morphologischen und funktionellen Schäden führen können, sodass in der Folge eine Permeabilitätserhöhung das Passieren von Pathogenen und Endotoxinen ermöglichen könnte. Eine weitere Folge erhöhter Temperaturen kann

eine gesteigerte Wasseraufnahme sein. Dies geht mit einer erhöhten Aufnahmechance des Erregers *Histomonas meleagridis* einher, denn der Erreger überlebt bis zu 9 Stunden im Trinkwasser bzw. in feuchter Umgebung. Der mögliche Einfluss des zystenartigen Stadiums sollte hierzu in Hinsicht auf sein Vorkommen im Feld und auf seine Überlebensfähigkeit noch genauer erforscht werden. Des Weiteren nimmt mit steigenden Temperaturen auch die Aktivität der Puten ab, sodass durch ein vermehrtes Ruhen auf kontaminierter Einstreu die Chance einer kloakalen *Histomonas meleagridis*-Aufnahme gefördert werden könnte. Weiterhin haben bekannte Vektoren ihr Aktivitätsmaximum und ihre höchste Reproduktionsrate bei ca. 15°C, was wiederum mit unseren Analysen korreliert. Der Landwirt berichtete zwar von einer vermehrten Beobachtung von Käfern nach dem Ausstallen *Histomonas meleagridis*-positiver Herden, jedoch wurden dazu keine Dokumentationen getätigt. Im Gegensatz zu erhöhten Temperaturen könnten erniedrigte Außentemperaturen dazu geführt haben, dass sich Vektoren in die wärmeren Putenställe zurückgezogen und somit einen Ausbruch begünstigt haben könnten.

Studien über die Koinfektion von *Eimeria spp.* und *Histomonas meleagridis* berichten bisher sowohl von einer Begünstigung als auch von einer Verschlechterung eines Histomonosis-Ausbruchs. Jedoch könnte eine *Histomonas meleagridis*-Infektion auch umgekehrt den Verlauf anderer Erkrankungen beeinflussen.

Abschließend unterstreichen die Ergebnisse dieses Studienabschnittes wieder, dass inadäquate Biosicherheitsmaßnahmen Histomonose-Ausbrüche fördern können.

5.2.3. Ergebnistransfer

Die Ergebnisse des zweiten Blocks wurden auf dem 101. Geflügelfachgespräch, welches vor allem bestandbetreuende Tierärzte/-innen als Publikum hat, vorgestellt (**Anlage 17** und **Anlage 18**).

Weiterhin wurden die Ergebnisse während eines gemeinsam mit dem ZDG organisierten Online-Seminars präsentiert (**Anlage 10**). Unter den Teilnehmern/-innen befanden sich sowohl Tierärzte/-innen als auch Tierhalter/-innen. Die Inhalte des Online-Seminars wurden anschließend zusammengefasst im DGS-Magazin veröffentlicht (**Anlage 11**).

Auch eine wissenschaftliche Veröffentlichung wurde zu den Ergebnissen des zweiten Blocks verfasst, welche bereits von dem Journal „Avian Diseases“ akzeptiert wurde (**Anlage 19**).

5.3. Block 3

5.3.1. Ergebnisdarstellung

Tabelle 6: Hintergrundinformationen zu den untersuchten Herden und Ergebnisse der PCR-Untersuchung

Betriebsstatus ^c	Masttier-Herden ^a		Elterntier-Herden ^b	
	positiv	negativ	positiv	negativ
Anzahl der Betriebe	17/43	26/43	2/8	6/8
Herdenstatus ^d	3/17	0/26	0/2	0/6
Prophylaxe ^e	8/17	1/26	0/2	0/6
Therapie ^f	2/17	0/26	0/2	0/6
PCR Blinddarm ^g	0/17	0/26	0/2	0/6
PCR Leber ^g	0/17	0/26	0/2	0/6

^a = entspricht 24 männlichen- und 19 weiblichen Herden

^b = entspricht 4 männlichen- und 4 weiblichen Herden

^c = positiv = Betriebe mit einer Histomonose-Historie, negativ = Betriebe ohne eine Histomonose-Historie

^d = Anzahl der Herden mit bestätigter Histomonose während der Lebenszeit/ Anzahl der untersuchten Herden

^e = Anzahl der mit Oregano-basierten Produkten behandelten Herden/ Anzahl der untersuchten Herden

^f = Anzahl der Herden mit Paromomycin-Therapie gegen Histomonose/ Anzahl der untersuchten Herden

^g = Anzahl der Herden mit positivem *Histomonas meleagridis*-Nachweis durch PCR/ Anzahl der untersuchten Herden

Keine der untersuchten Proben enthielt nachweisbare Erreger-DNA, während positive Kontrollproben sich bei den Tests stets positiv darstellten. Aus diesem Grund konnte eine Einschätzung der Prävalenz der Histomonose nicht erfolgen. Jedoch lieferten die zusätzlich erhobene Betriebsdaten Hinweise auf eine mögliche Verteilung der Erkrankung in Deutschland und in benachbarten Ländern. Demnach wurden 19 Betriebe beprobt, bei denen in der Vergangenheit bereits Histomonose-Ausbrüche klinisch, pathologisch-anatomisch oder durch andere Nachweisverfahren detektiert wurden. Diese Betriebe waren deutschlandweit sowie in einigen benachbarten Ländern (Belgien, Niederlande, Dänemark, Polen) verteilt, was andere Studien und Berichte aus der Praxis bestätigt, welche berichten, dass die Erkrankung europaweit eine entscheidende Rolle einzunehmen scheint.

5.3.2. Ergebnisdiskussion

Weder bei den Masttier- noch bei den Elterntier-Herden mit oder ohne eine Historie von Histomonose-Ausbrüchen konnte Erreger-DNA detektiert werden. Somit konnten keine Hinweise auf eine akute oder chronische

Histomonaden-Infektion bei den untersuchten, klinisch gesunden Herden gesammelt werden.

Wir gehen davon aus, dass die PCR-Methode zwar ausreichend spezifisch und sensitiv ist, um eine *Histomonas meleagridis*-Infektion nachzuweisen, jedoch die klinisch gesunden Tiere von vormals positiven Herden zum Zeitpunkt der Schlachtung weitestgehend negativ waren, sodass die Chance der Detektion des Erregers mit unserem Ansatz gering zu sein scheint.

Durch eine Erweiterung der Probenanzahl und parallele Erfassung von Betriebsgesundheitsdaten der zu schlachtenden Putenherden könnte zukünftig dieser Ansatz noch einmal vertiefend weiterverfolgt werden.

5.3.3. Ergebnistransfer

Da in diesem Arbeitsblock eine etablierte Diagnostikmethode eingesetzt wurde, welche sowohl den Tierhaltern/-innen als auch den bestandbetreuenden Tierärzten/-innen bekannt ist, möchten wir auf einen Ergebnistransfer an die genannten Gruppierungen verzichten. Jedoch ist eine Veröffentlichung geplant, die eine detaillierte Auswertung der Ergebnisse beinhaltet und vor allem an Wissenschaftler/-innen gerichtet sein soll, um bei einer zukünftigen Reproduktion des Forschungsansatzes aufgetretene Fehler zu vermeiden (**Anlage 20**).

6. Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Aus der epidemiologischen Studie konnten neue Erkenntnisse zum Eintrag des Erregers *Histomonas meleagridis* in Putenbestände sowie zu krankheitsbegünstigenden Faktoren der Histomonose gewonnen werden. Diese Erkenntnisse tragen dazu bei, dass die Biosicherheitsmaßnahmen und Betriebsmanagementstrategien in der Putenhaltung zielführend verbessert und angepasst werden können, um das Risiko von Histomonose-Ausbrüchen deutlich zu senken und somit Tierleid aber auch wirtschaftliche Verluste zu vermeiden. Zu den Biosicherheitsmaßnahmen könnte eine gezielte Kontrolle potentieller Vektoren und eines potentiellen Wildvogel-Reservoirs zählen. Weiterhin sollte das Reinigungs- und Desinfektionsmanagement (z.B. im Bereich der Hygieneschleuse) verbessert werden, indem eine lückenlose Reinigung angestrebt wird und Desinfektionsmittel verwendet werden, welche gegen den Erreger wirksam sind. Ein sicherer Umgang mit Einstreumaterialien, welcher bereits während der Ernte beginnen sollte, könnte ebenfalls zu einer Reduktion von Ausbrüchen beitragen. Eine bauliche Modernisierung älterer Ställe könnte dazu führen, dass dem Erreger weniger Rückzugsmöglichkeiten geboten werden. Die Modernisierung und der Ausbau von Hygieneschleusen könnten weitere Beiträge zur Minimierung von Eintragsquellen sein. Da eine unzureichende Gesundheit der Putenherden eine wichtige, begünstigende Rolle für den Verlauf der Histomonose einzunehmen scheint, sollte alles dafür getan werden, um das Tiergesundheitsmonitoring und die Maßnahmen zur Krankheitsvorbeuge zu optimieren. Auch die Verbesserung des Klimamanagements könnte einen

positiven Effekt auf eine Verhinderung eines Histomonose-Ausbruchs haben, da das Risiko einer saisonalen Spitze der Histomonaden-Infektion somit reduziert werden könnte. Die Biosicherheits- und Betriebsmanagementstrategien könnten beispielsweise durch die Erstellung von Leitfäden an die Tierhalter/-innen transferiert werden.

Die gewonnenen Erkenntnisse gilt es jedoch in weiterführenden Studien zu bestätigen bzw. vertiefend zu untersuchen.

Aus der Studie konnten weiterhin einige Daten generiert werden, die zu einer genaueren Untersuchung der Erreger-Wirt-Interaktion in weiterführenden, wissenschaftlichen Studien genutzt werden können, wie zum Beispiel in Bezug auf die:

- Ermittlung der Mechanismen, die zum Einfluss des Geschlechts der Pute auf den Verlauf der Histomonose, führen.
- Ursachenermittlung für die saisonale und regionale Häufung der Histomonose.
- Interaktion zwischen *Histomonas meleagridis* und anderen Erregern unter Beachtung der Zusammensetzung des Darmmikrobioms.

7. Zusammenfassung

Die Histomonose (Schwarzkopferkrankung) ist eine durch *Histomonas meleagridis* verursachte Parasitose beim Nutzgeflügel, aber auch bei einigen Zier-, Zoo- und Wildvogelspezies. In Putenbeständen können die hohen Mortalitätsraten durch *Histomonas meleagridis*, bedingt durch einen Therapienotstand, inzwischen existenzbedrohende Ausmaße erreichen. Die im Feld umgesetzten Biosicherheitsmaßnahmen haben die Einträge des Erregers bisher nicht verlässlich unterbinden können. International gibt es bisher nur wenige Studien, die sich systematisch mit den Risikofaktoren für einen Eintrag von *Histomonas meleagridis* in Putenherden sowie für die Entwicklung einer klinischen Erkrankung beschäftigten. In unserer Studie konnten durch Fragebögen im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie, durch eine Befragung von Betrieben mit Histomonose-Ausbrüchen sowie durch eine retrospektive Untersuchung eines landwirtschaftlichen Betriebes mit wiederkehrenden *Histomonas meleagridis*-Nachweisen mögliche Risikofaktoren für einen vermehrten Eintrag des Erregers sowie krankheitsbegünstigende Faktoren bestätigt bzw. aufgedeckt werden. Trotz einer guten Aufklärung der Landwirte/-innen und eines guten Risikobewusstseins gibt es Hinweise darauf, dass eine Verbesserung der Biosicherheitsmaßnahmen, in Bezug auf beispielsweise Hygieneschleusen, Einstreumanagement sowie Vektorkontrolle, das Eintragsrisiko weiter senken könnte. Auch eine Reduktion von Stresssituationen für die Tiere und eine vermehrte Kontrolle von Vorerkrankungen könnten das Risiko eines Histomonose-Ausbruchs senken. Unsere Feldstudien haben noch einmal bestätigt, dass der Erreger nicht nur in deutschen, sondern auch in europäischen Putenherden verbreitet ist. Dies verdeutlicht, dass dringend Maßnahmen zur Reduktion des Eintrags und der Ausbreitung von *Histomonas meleagridis* gefunden und stringent umgesetzt werden müssen.

8. Anlagen

Anlage 1: Verwendungsnachweis der bewilligten Mittel/Erklärung zur Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung

Anlage 2: Fragebogen 1

Anlage 3: DGS Magazin, 17/2021, Seite 7: Tiergesundheit/Umfrage; „Wie kommen Histomonaden in den Stall“; Ulmer-Verlag; 03.05.2021

Anlage 4: DGS Magazin, 17/2021, Seite 24-25 „Schwarzkopf bei Puten und Legehennen – präventiv handeln – aber wie?“; S. Rautenschlein, A. Campe, D. Wunderl, C. Üffing; Ulmer-Verlag; 03.05.2021

Anlage 5: Aufruf zur Teilnahme an der Umfrage auf der Webseite des WING: <https://wing.tiho-hannover.de/meldungen/archiv-2021/studie-epidemiologische-untersuchungen-zur-ermittlung-von-ei.html>; 18.05.2021

Anlage 6: Anschreiben des ZDG an alle Mitglieder des VDP zum Aufruf, an der Umfrage teilzunehmen; 18.05.2021

Anlage 7: Erinnerung des ZDG an alle Mitglieder des VDP zum Aufruf, an der Umfrage teilzunehmen; 11.06.2021

Anlage 8: ZDG-Direkt, Erinnerung des ZDG zum Aufruf, an der Umfrage teilzunehmen; Oktober 2021

Anlage 9: Fragebogen 2

Anlage 10: Online-Seminar zum Forschungsprojekt „Epidemiologische Untersuchungen zur Ermittlung von eintragsbegünstigenden Ursachen und krankheitsbegünstigenden Faktoren der Schwarzkopfkrankheit- aktuelle Ergebnisse“; J. Lüning, M. Auerbach, R. Lindenwald, C. Sürrie, A. Jung, A. Campe, S. Rautenschlein; veranstaltet mit dem Zentralverband der deutschen Geflügelwirtschaft e.V.; 09.12.2021

Anlage 11: DGS Magazin, 01/2022, Seite 8: Putenhaltung: „Schwarzkopf in aller Munde“; J. Lüning, A. Jung, C. Sürrie, A. Campe, S. Rautenschlein; Ulmer-Verlag; 11.01.2022

Anlage 12: „Histomonosis in German turkey flocks: possible ways of pathogen introduction and outbreak-favouring conditions“; J. Lüning, D. Wunderl, S. Rautenschlein, A. Campe (2022), Eingereicht bei Avian Pathology; 2022

Anlage 13: Ergebnis-Mitteilung an alle interessierten Teilnehmer/-innen der Online-Befragung, J. Lüning, D. Wunderl, A. Campe, S. Rautenschlein, geplant als direkter E-Mail-Versand für 12/2022

Anlage 14a und 14b: „Investigations of histomonosis-favouring conditions: a field study“; J. Lüning, A. Campe, S. Rautenschlein (2022); eingereicht bei Avian Pathology; 2022

Anlage 15: Dissertation mit dem Titel „Histomonosis bei der Pute: Epidemiologische Untersuchungen zur Ermittlung von Eintragsursachen und krankheitsbegünstigenden Faktoren“; eingereicht von J. Lüning; 2022

Anlage 16: Beitrag auf der EuroTier 2021 „Schwarzkopf beim Geflügel - Aktuelle Entwicklungen“; S. Rautenschlein, A. Campe, C. Üffing; DLG-Spotlights; Programm Geflügel; 09.02.2021, 10.30 Uhr

Anlage 17: Vortrag auf dem 101. Geflügelfachgespräch „Wiederkehrende Histomonosis bei Puten- ein Fallbeispiel“; J. Lüning, M. Auerbach, R. Lindenwald, A. Campe, S. Rautenschlein; 05.11.2021

Anlage 18: Abstract im Tagungsband des 101. Geflügelfachgespräches, Seite 53, ISBN 978-3-86345-605-4, 1. Auflage Gießen, Verlag der DVG Service GmbH; November 2021

Anlage 19: „Retrospective investigations of recurring histomonosis on a turkey farm“; J. Lüning, M. Auerbach, R. Lindenwald, A. Campe, S. Rautenschlein; akzeptiert von Avian Diseases; 2022

Anlage 20: „Research Note: Prevalence of *Histomonas meleagridis* in slaughtered breeding- and meat-turkeys“; J. Lüning, D. Mischok, A. Campe, S. Rautenschlein (2022); Einreichung geplant bei Avian Diseases; 2022

9. Kontakt

Ihre aktuellen Ansprechpartner an der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Prof. Dr. Silke Rautenschlein, PhD
Stiftung Tierärztliche Hochschule
Klinik für Geflügel
Bünteweg 17
30559 Hannover
Tel.: 0511-953-8778
Mail: silke.rautenschlein@tiho-hannover.de

PD Dr. Amely Campe
Stiftung Tierärztliche Hochschule
Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung
Bünteweg 2
30559 Hannover
Tel.: 0511-953-7961
Mail: amely.campe@tiho-hannover.de

Julia Lüning
Stiftung Tierärztliche Hochschule
Klinik für Geflügel
Bünteweg 17
30559 Hannover
Tel.: 0511-953-8777
Mail: julia.luening@tiho-hannover.de

Die Inhalte des Berichts und der Anlagen dürfen nicht ohne vorherige Rücksprache an Dritte weitergegeben werden.

Hannover, den 05.12.2022



Prof. Dr. S. Rautenschlein, PhD

10. Referenzen

1. Cushman, S., *Turkeys, experiments with; management of by successful producers; wild turkey crosses, their desirability and where they may be obtained*. Rhode Island Agr. Expt. Sta. Bulletin, 1893. 25: p. 85-123.
2. Smith, T., *An infectious disease among turkeys caused by Protozoa (infectious enterohepatitis)*. US Dept. Agric. Bur. Anim. Indust. Bull., 1895. No. 8: p. 7.
3. Lin, G.W., *Paromomycin Sulfate Treatment in Histomoniasis Outbreaks in Three Commercial Turkey Flocks in the Fraser Valley of British Columbia, Canada*. Avian Diseases, 2021. 65(4): p. 592-598.
4. Callait-Cardinal, M.P., et al., *Incidence of histomonosis in turkeys in France since the bans of dimetridazole and nifursol*. Vet Rec, 2007. 161(17): p. 581-5.
5. McDougald, L.R., *Blackhead disease (histomoniasis) in poultry: a critical review*. Avian Dis, 2005. 49(4): p. 462-76.
6. Hauck, R. and H.M. Hafez, *Experimental infections with the protozoan parasite Histomonas meleagridis: a review*. Parasitology Research, 2013. 112(1): p. 19-34.
7. Hu, J. and L.R. McDougald, *Direct lateral transmission of Histomonas meleagridis in turkeys*. Avian Diseases, 2003. 47(2): p. 489-92.
8. Powell, F.L., et al., *The turkey, compared to the chicken, fails to mount an effective early immune response to Histomonas meleagridis in the gut*. Parasite Immunology, 2009. 31(6): p. 312-327.
9. Behr, K.-P., et al., *Kompendium der Geflügelkrankheiten [Compendium of poultry diseases]*. 7 ed. 2012: Schluetersche Verlagsgesellschaft mbH Co. KG.
10. Senties-Cue, G., R.P. Chin, and H.L. Shivaprasad, *Systemic histomoniasis associated with high mortality and unusual lesions in the bursa of Fabricius, kidneys, and lungs in commercial turkeys*. Avian Diseases, 2009. 53(2): p. 231-238.
11. Abd El-Wahab, A., et al., *A case study of histomoniasis in fattening turkeys identified in histopathological investigations*. German Journal of Veterinary Research, 2021. 1: p. 13-18.
12. Sulejmanovic, T., et al., *Emergence of fatal histomonosis in meat turkey flocks in Austria from 2014 to 20116*. Wiener Tierärztliche Monatschrift, 2017. 104(9-10): p. 277-287.
13. Hauck, R., et al., *Retrospective Study of Histomoniasis (Blackhead) in California Turkey Flocks, 2000-2014*. Avian Diseases, 2018. 62(1): p. 94-100.
14. Hauck, R., S. Balczulat, and H.M. Hafez, *Detection of DNA of Histomonas meleagridis and Tetratrichomonas gallinarum in German poultry flocks between 2004 and 2008*. Avian Diseases, 2010. 54(3): p. 1021-5.
15. Aka, J., et al., *[Reoccurrence of histomonosis in turkey breeder farm]*. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 2011. 124(1-2): p. 2-7.
16. Gerbod, D., et al., *Phylogenetic position of the trichomonad parasite of turkeys, Histomonas meleagridis (Smith) Tyzzer, inferred from small subunit rRNA sequence*. J Eukaryot Microbiol, 2001. 48(4): p. 498-504.
17. Commission of European Communities, *Commission Regulation (EC) No. 1798/95 of July 25, 1995 amending Annex IV to Council Regulation (EEC) No. 2377/90 laying down a community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin*. 1995. p. 20-21.
18. Commission of European Communities, *Commission Regulation (EC) No. 1756/2002 of September 23, 2002 amending Directive 70/524/EEC*

- concerning additives in feedingstuffs as regards withdrawal of the authorisation of an additive and amending, Commission Regulation (EC) No. 2430/1999. 2002. p. 1–2.
19. Liebhart, D., et al., *Histomonosis in poultry: previous and current strategies for prevention and therapy*. Avian Pathol, 2017. 46(1): p. 1-18.
 20. Liebhart, D. and M. Hess, *Spotlight on Histomonosis (blackhead disease): a re-emerging disease in turkeys and chickens*. Avian Pathol, 2020. 49(1): p. 1-4.
 21. Sulejmanovic, T., et al., *An in vitro attenuated strain of Histomonas meleagridis provides cross-protective immunity in turkeys against heterologous virulent isolates*. Avian Pathol, 2016. 45(1): p. 46-53.
 22. Liebhart, D., et al., *Safety of avirulent histomonads to be used as a vaccine determined in turkeys and chickens*. Poult Sci, 2011. 90(5): p. 996-1003.
 23. Jung, A., et al., *[Courses of a natural infection with Histomonas meleagridis in a meat turkey flock]*. Dtsch Tierärztl Wschr, 2009. 11: p. 392–397.
 24. Lotfi, A.R., E.M. Abdelwhab, and H.M. Hafez, *Persistence of Histomonas meleagridis in or on materials used in poultry houses*. Avian Dis, 2012. 56(1): p. 224-6.
 25. Callait-Cardinal, M.P., et al., *Flock management and histomoniasis in free-range turkeys in France: description and search for potential risk factors*. Epidemiol Infect, 2010. 138(3): p. 353-63.